Journal of Horticultural Science
https:// jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 2, Summer 2022, p. 533-547

Evaluation of Response of Growth and Physiological Factors of Barberry (*Berberis vulgaris* L.) Inoculated With Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Salinity of Irrigation Water

S. Daghighi[1*], F. Azarmi-Atajan[2], N. Chopani[3]

Received: 15-01-2022
Revised: 05-02-2022
Accepted: 07-03-2022
Available Online: 21-08-2022

How to cite this article:
Daghighi S., Azarmi-Atajan F., and Chopani N. 2022. Evaluation of Response of Growth and Physiological Factors of Barberry (*Berberis vulgaris* L.) Inoculated With Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Salinity of Irrigation Water. Journal of Horticultural Science 36(2): 533-547. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/JHS.2022.74621.1126

Introduction

Barberry is one of the important agricultural products of Iran and has an important role in the economy of farmers, especially in South Khorasan province. Salinity as abiotic stress can cause an ionic or osmotic imbalance in plant cells. Salt stress also restricts plant growth and development by affecting water reducing availability and affecting plant production. Despite the relatively high tolerance of barberry to environmental stresses, increasing soil salinity and irrigation water in barberry growing areas, the growth, and yield of this agricultural product have decreased. The use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) is a new method that has been shown to increase the tolerance of various plants to salinity stress.

Materials and Methods

Due to the lack of information about the effect of salinity on the growth and establishment of barberry off-shoot and the role of beneficial soil bacteria in increasing the tolerance of this plant to salinity stress, this study aimed to investigate the role of bacteria on growth, physiological and biochemical properties and uptake of nutrients by barberry off-shoot at different levels of irrigation water salinity. For this purpose, a factorial study was conducted in a randomized complete block design with 3 replications. Experimental factors included plant growth-stimulating bacteria at three levels (control (Without inoculation) and inoculation with *Pseudomonas sp.* P1 and *Pseudomonas sp.* P2) and salinity of irrigation water at three levels (control, 6 and 12 dS/m from sodium chloride source). The bacteria used in this study were able to produce indole acetic acid, siderophore, ACC deaminase enzyme, and dissolve insoluble phosphate (tricalcium phosphate) in vitro. For inoculation, inoculum containing each bacterium with a population of 10^8 cells/ml was prepared in the Nutrient Broth medium and added to the root medium. The plants were irrigated with non-saline water for one month and then with saline water for two months based on experimental treatments. Finally, leaf sampling was performed and various characteristics such as leaf dry weight, chlorophyll, proline, total sugar, RWC and phosphorus, potassium, sodium, and chloride concentrations were measured. Analysis of variance of traits was performed using SAS software and the means were compared using the LSD method with a probability level of $P \leq 0.05$.

Results and Discussion

The results showed that the salinity of irrigation water reduced leaf dry weight, chlorophyll and carotenoid concentration, relative water content, and potassium to sodium ratio of barberry leaves. Decreased photosynthetic pigments under salinity may be due to decreased synthesis of the main chlorophyll pigment complex, oxidative damage to chloroplast lipids, pigments, and proteins, or increased chlorophyllase activity. In contrast, with increasing salinity, the amount of proline and total sugar and the concentration of phosphorus,

1 and 3- Assistant Professor and M.Sc. Graduated Student, Horticultural Science Engineering Department, Agricultural College, University of Birjand, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: sdaghighi@birjand.ac.ir)
2- Assistant Professor, Soil Science and Engineering Department, Agricultural College, University of Birjand, Iran

sodium, and chlorine in leaves increased. Bacterial inoculation also increased leaf dry weight, chlorophyll, carotenoids, potassium concentration, relative water content, and potassium to sodium ratio, especially in saline conditions. Also in saline conditions, the concentrations of sodium, chlorine, phosphorus, proline, and total sugar in the leaves of barberry off-shoot inoculated with bacteria decreased. It seems that PGPR plays a significant role in the regulation of cellular osmolites, including proline and soluble sugars, by producing various metabolites and increasing the absorption of water and nutrients. The highest amount of leaf dry weight (0.70 g), total chlorophyll (0.92 mg g^{-1} fresh weight), carotenoids (0.51 mg g^{-1} fresh weight), leaf potassium (0.48 %), and total leaf sugar (43.7 mg g^{-1} dry weight) was obtained from the application of PGPR in conditions without salinity stress. Also, the use of bacteria in saline conditions decreased the amount of phosphorus and total sugar and in non-saline conditions increased the amount of these parameters. PGPR through various mechanisms such as the production of auxin, organic and mineral acids, and secretion of proton and phosphatase enzymes increase the availability of phosphorus for the plant, root growth, and absorption of water and nutrients. Increased absorption of water and nutrients has led to increased leaf growth and development and therefore reduced phosphorus concentration (dilution effect).

Conclusion

According to the results, PGPR by increasing the absorption of water and nutrients such as phosphorus and potassium caused osmotic regulation in the plant and thus increased the tolerance of barberry off-shoot to salinity stress of irrigation water. The ability of these bacteria to improve plant growth in saline conditions could be due to the production of auxin, siderophore, dissolution of tricalcium phosphate, and especially the production of the enzyme ACC-deaminase (as observed in vitro). Therefore, these bacteria can be used to improve the nutrition growth and establishment of barberry off-shoot.

Keywords: Barberry, Beneficial soil microorganisms, Nutrients, Osmotic regulation, Salinity stress

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱، ص ۵۴۷-۵۳۳

پاسخ فاکتورهای رشدی و فیزیولوژیکی پاجوش‌های زرشک (*Berberis vulgaris* L.) تلقیح شده با باکتری‌های محرک رشد گیاه به شوری آب آبیاری

سعید دقیقی[1*]- فرهاد آذرمی آتاجان[2]- نسیبه چوپانی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۶

چکیده

استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) از روش‌های نوین برای افزایش تحمل گیاه به تنش شوری است. به‌منظور بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه بر رشد و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی پاجوش‌های زرشک تحت تنش شوری، مطالعه‌ای بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در نهالستان اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل باکتری‌های محرک رشد گیاه در سه سطح (شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح با باکتری‌های *Pseudomonas* sp. P_1 و *Pseudomonas* sp. P_2) و شوری آب آبیاری در سه سطح (شاهد، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر از منبع کلرید سدیم) بود. نتایج نشان داد که شوری آب آبیاری موجب کاهش وزن خشک برگ، غلظت کلروفیل و کاروتنوئید، مقدار نسبی آب و نسبت پتاسیم به سدیم برگ پاجوش‌های زرشک شد. در مقابل با افزایش شوری، مقدار پرولین و قند کل و غلظت عناصر فسفر، سدیم و کلر برگ افزایش یافت. همچنین تلقیح با باکتری‌ها وزن خشک برگ، کلروفیل، کاروتنوئید، غلظت پتاسیم، محتوای نسبی آب و نسبت پتاسیم به سدیم را بویژه در شرایط شور افزایش داد. همچنین در شرایط شور، غلظت سدیم، کلر، فسفر، پرولین و قند کل در برگ پاجوش‌های زرشک تلقیح شده با باکتری‌ها کاهش یافت. بیشترین مقدار وزن خشک برگ (۰/۷۰ گرم)، کلروفیل کل (۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، کاروتنوئید (۰/۵۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، پتاسیم برگ (۰/۴۸ درصد) و قند کل برگ (۴۳/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) از کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در شرایط بدون تنش شوری بدست آمد. هم‌چنین کاربرد باکتری‌ها در شرایط شور منجر به کاهش مقدار فسفر و قند کل در برگ شد. باکتری‌های محرک رشد گیاه استفاده شده در این پژوهش با کاهش تجمع سدیم و کلر در برگ، افزایش غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها و افزایش مقدار فسفر و پتاسیم در برگ، موجب بهبود رشد و استقرار پاجوش‌های زرشک در شرایط شور شدند.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، تنظیم اسمزی، ریزجانداران مفید خاکزی، زرشک، عناصر غذایی

مقدمه

زرشک به‌عنوان یکی از گیاهان بومی ایران بیش از ۶۶۰ گونه دارد که فقط نوع بی‌دانه آن بصورت باغی در ایران کشت می‌گردد (Kafi and Balandar, 2004). از انواع گونه‌های زرشک برای اهداف تغذیه‌ای و درمانی استفاده می‌شود. در طب سنتی میوه زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris* L.) برای درمان بیماری‌های کبد و سیستم گردش خون کاربرد دارد. همچنین از ریشه، ساقه و برگ این گونه به‌دلیل داشتن مقادیر بالای بربرین و آلکالوئید برای اهداف درمانی استفاده می‌شود (Kong *et al.*, 2004). براساس آمارنامه جهاد کشاورزی (۱۳۹۸) سطح زیر کشت زرشک حدود ۱۸۳۰۰ هکتار و تولید آن حدود ۲۱۰۰۰ تن می‌باشد که بیش از ۹۸ درصد آن در استان خراسان جنوبی قرار دارد. شرایط خاص منطقه خراسان جنوبی از قبیل کمبود بارندگی، شوری آب و شور و قلیایی بودن خاک‌ها مانع گسترش کشت و کار بسیاری از گیاهان متداول به صورت تجاری

۱ و ۳- به‌ترتیب استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: sdaghighi@birjand.ac.ir)
۲- استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران

DOI: 10.22067/JHS.2022.74621.1126

شده است. در این شرایط، زرشک بی‌دانه به عنوان یک محصول اقتصادی جایگاه ویژه‌ای را در اقتصاد کشاورزی به خود اختصاص داده است و نقش بسزایی را در اقتصاد خانواده‌های روستایی این منطقه دارد. در سالهای اخیر توسعه کشت درختچه‌های زرشک به‌دلیل تحمل نسبتا زیاد در برابر شرایط نامناسب آب و خاک، اهمیت زیادی پیدا کرده است (Moradinezhad *et al.*, 2018).

اگرچه درختچه‌های زرشک تحمل نسبتاً بالایی به تنش شوری دارند ولی افزایش بیش از حد شوری آب و خاک در مناطق زرشک‌کاری استان خراسان جنوبی، به‌ویژه در سال‌های اخیر، کاهش رشد و عملکرد این محصول را موجب شده است. از دلایل افزایش شوری خاک می‌توان به ماهیت و کانی‌شناسی خاک، استفاده از آبهای بی کیفیت و شور، استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی، کاهش بارندگی و افزایش تبخیر و تعرق اشاره کرد. شوری یکی از مهمترین تنش‌های زیست محیطی در اکثر مناطق دنیا می‌باشد که از طریق کاهش پتانسیل اسمزی و اختلال در جذب برخی عناصر غذایی، رشد و عملکرد محصولات کشاورزی را محدود می‌کند (Munns, 2005). تنش شوری با کاهش فراهمی آب در خاک، تجمع یون‌های سدیم و کلر در خاک و گیاه و کاهش جذب عناصر غذایی، رشد و عملکرد گیاه را کاهش می‌دهد. این عوامل منجر به کاهش آب بافت‌ها، کاهش ظرفیت فتوسنتز و سنتز پروتئین، تخریب مولکول‌های درشت، تخریب غشا سلولی و عدم تعادل غذایی در گیاه می‌شود (Feng *et al.*, 2002). تنش شوری همچنین جذب برخی از عناصر غذایی مانند پتاسیم، کلسیم و منیزیم را کاهش داده و باعث بروز کمبود عناصر غذایی مختلف و سمیت سدیم در گیاه می‌شود (Iqbal and Ashraf, 2013). بر خلاف دیگر تنش‌های محیطی که در دوره خاصی از رشد گیاه بروز پیدا می‌کنند، تنش شوری در تمام دوره رشد گیاه وجود داشته و آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گیاهانی که در خاک‌های شور رشد می‌کنند، به دلیل خواص اسمزی، علاوه بر تنش شوری با تنش کم آبی نیز مواجه شده که این عامل سبب کاهش سرعت رشد گیاه می‌شود. این امر موجب اختلال در تقسیم سلول و بزرگ شدن سلول‌ها شده و تمام واکنش‌های متابولیکی گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. همچنین در خاک‌های شور، عدم تعادل تغذیه‌ای، از مهمترین دلایل کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌باشد. به طور مثال، بالا بودن قدرت یونی محیطهای شور، عامل مهمی برای کاهش فعالیت فسفر در خاک است.

استفاده از باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR) متحمل به تنش شوری از روش‌های نوینی است که می‌تواند جذب عناصر غذایی و در نتیجه رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌های شور افزایش دهد (Egamberdieva and Kucharova, 2009). این ریزجانداران با سازوکارهای مختلفی مانند تولید هورمون‌های گیاهی، تولید لایه زنده (بیوفیلم)، سیدروفور، ایندول استیک اسید، سیانید هیدروژن، آنزیم ACC–دآمیناز و افزایش انحلال ترکیبات نامحلول عناصر غذایی از جمله فسفر و روی با تولید اسیدهای آلی و آنزیم فسفاتاز باعث افزایش رشد ریشه و در نتیجه جذب آب و عناصر غذایی بویژه در شرایط تنش شوری در گیاه شوند (Azarmi *et al.*, 2016; Ansari *et al.*, 2019). باکتری‌های جنس سودوموناس از مهمترین باکتریهای ریزوسفری محرک رشد گیاه هستند که قابلیت زنده ماندن آن‌ها و کلونیزه کردن ریشه گیاهان مختلف در سطوح مختلف شوری خاک به اثبات رسیده است (Paul and Nair, 2008 ; Mishra et al., 2021). این باکتری‌ها توانایی تولید ترکیبات ثانویه متعدد و آنزیم‌های مختلف را دارا هستند. آنزیم ACC–دآمیناز نقش مهمی در افزایش مقاومت گیاهان به تنش شوری و کاهش اثرات این تنش بر گیاه با تنظیم و تعدیل سطح اتیلن دارد. این آنزیم اتیلن را به آمونیاک و آلفا کتوبوتیرات تبدیل کرده و مقدار اتیلن تنشی را کاهش می‌دهد. باکتری‌های محرک رشد گیاه تولید کننده ACC–دآمیناز نقش کلیدی در کاهش اتیلن تولید شده در اثر تنش‌های زیست محیطی مانند شوری در گیاه دارند (Glick, 2004). گزارش شده است که استفاده از باکتری *سودوموناس پوتیدا* با کاهش سطح آبسیزیک اسید و افزایش غلظت ایندول استیک اسید در برگ، باعث افزایش مقاومت مرکبات به تنش شوری شد (Vives-Peris *et al.*, 2018). از طرفی تلقیح نهال‌های پسته با باکتری‌های سودوموناس فلوروسنت باعث افزایش رشد اندام هوایی و ریشه، جذب عناصر غذایی، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و کاهش تجمع سدیم و کلر در سطوح مختلف شوری شد (Azarmi *et al.*, 2016).

تاکنون مطالعات اندکی در رابطه با تاثیر سطوح مختلف شوری خاک و آب بر رشد و عملکرد درختچه‌ها و استقرار پاجوش‌های زرشک انجام شده است. بنابراین با توجه به نبود مستندات در رابطه با تأثیر ریزجانداران مفید خاکزی بر رشد، عملکرد و استقرار درختچه و پاجوش‌های زرشک در شرایط شور، هدف از این مطالعه بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه بر رشد و استقرار پاجوش‌های زرشک در سطوح مختلف شوری آب آبیاری بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر برخی از ویژگی‌های رویشی و فیزیولوژیکی پاجوش‌های زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris* L.) تحت سطوح مختلف شوری آب آبیاری در سال زراعی ۹۸–۱۳۹۷ در نهالستان دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند با طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۱۳ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۵۳ دقیقه و ارتفاع ۱۴۹۱ متر از سطح دریا انجام شد. آزمایش بصورت فاکتوریل و در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد که فاکتورهای آزمایش شامل باکتری‌های

محرک رشد گیاه در سه سطح (شاهد (بدون تلقیح) و تلقیح با باکتری‌های *Pseudomonas sp.* P1 و *Pseudomonas sp.* P2) و شوری آب آبیاری در سه سطح (شاهد، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بود. باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش از بانک میکروبی گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند انتخاب شدند که قبلاً از خاک‌های شور جداسازی شده و ویژگی‌های محرک رشدی آن‌ها تعیین شده بود. این باکتری‌ها توانایی تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور، آنزیم ACC دآمیناز و انحلال فسفات نامحلول (تری کلسیم فسفات) را در شرایط آزمایشگاهی داشتند (Azarmi *et al.*, 2015).

قبل از اجرای آزمایش، از محل کاشت پاجوش‌های زرشک، سه نمونه خاک از نقاط مختلف تا عمق ۴۰ سانتی‌متری تهیه و سپس آن‌ها را ترکیب کرده (یک نمونه مرکب) و برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن اندازه‌گیری شد (جدول ۱). برای انجام این پژوهش، ابتدا پاجوش‌های زرشک با کیفیت مناسب تهیه شده و در آبان ماه سال ۱۳۹۷ در نهالستان دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند برای ریشه‌دار شدن و سبز شدن در خاک لومی شنی کشت شدند. پس از اطمینان از ریشه‌زایی و سبز شدن پاجوش‌ها، در اوایل فصل بهار پاجوش‌های یک دست و هم‌اندازه انتخاب و در کرت‌های آماده شده (هر کرت یک پاجوش) کاشته شدند. اندازه هر کرت ۷۵ ×۷۵ سانتی‌متر و فاصله کرت‌ها از یکدیگر یک متر در نظر گرفته شد. همچنین فاصله بلوک‌ها برای اطمینان از عدم نفوذ شوری آب آبیاری به دیگر بلوک‌ها ۱/۵ متر لحاظ گردید. برای تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه، مایه تلقیح محتوی هر یک از باکتری‌ها تهیه (با جمعیت ۱۰۸ سلول در میلی‌لیتر در محیط Nutrient Broth) و در زمان کاشت پاجوش‌های ریشه‌دار شده در کرت‌ها، به محیط ریشه هر پاجوش ۵ میلی‌لیتر از مایه تلقیح باکتری اضافه شد. برای تیمار شاهد از مایه تلقیح بدون باکتری استفاده گردید. برای استقرار بهینه و رشد مناسب، همه پاجوش‌ها به مدت یک ماه با آب غیر شور (شوری ۱/۲ دسی زیمنس بر متر) آبیاری شده و پس از آن آبیاری با آب شور براساس تیمار شوری انجام شد. برای تهیه آب شور از نمک کلرید سدیم استفاده شده و با حل کردن آن در آب پایه، قابلیت هدایت الکتریکی آن به ترتیب به ۶ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر رسانده شد. آب‌های شور تهیه شده در ظروف ۲۰ لیتری نگهداری و قبل از هر آبیاری خوب همزده شده و قابلیت هدایت الکتریکی آن کنترل شد. دو ماه پس از آبیاری با آب شور، نمونه‌برداری از پاجوش‌ها انجام و ویژگی‌های مختلف اندازه‌گیری شد. برای تعیین شاخص سبزینگی برگ (SPAD) از برگ‌های سالم و بالغ پاجوش‌ها انتخاب و توسط دستگاه سبزینه‌سنج مدل MINOLTA-SPAD-502 قرائت و ثبت شد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری غلظت کلروفیل، نمونه‌برگ تازه از برگ‌های سالم و بالغ تهیه و توسط استون ۸۰ درصد عصاره‌گیری و سانتریفوژ شد. در نهایت مقدار جذب در محلول رویی عصاره‌ها در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a، ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئید توسط اسپکتروفتومتر (Model Unico 2100, China) قرائت و غلظت آن‌ها محاسبه گردید (Arnon, 1967). تعداد ۱۵ عدد برگ از هر تیمار انتخاب و برای تعیین وزن خشک برگ به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و سپس با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ توزین شدند. برای اندازه‌گیری قند کل، نمونه برگ خشک شده و پس از عصاره‌گیری با متانول سانتریفوژ شد. سپس به محلول رویی آنترون، اسیدسولفوریک و آب مقطر اضافه و در نهایت مقدار جذب در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز، مقدار قند کل برگ محاسبه شد (Mc Cready *et al.*, 1950). برای تعیین غلظت پرولین، نمونه تازه برگ با اسید سولفوسالیسیلیک ساییده شده و سپس به آن معرف ناین هیدرین و اسید استیک گلایسیال اضافه شد. در نهایت به نمونه‌ها تولوئن اضافه و پس از انجام واکنش، مقدار جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Bates *et al.*, 1973). برای اندازه‌گیری غلظت عناصر در برگ، نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و سپس درون کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد خاکستر شدند. سپس نمونه‌های خاکستر شده با استفاده از اسیدکلریدریک ۲ نرمال عصاره‌گیری شده و برای تهیه عصاره شفاف از کاغذ صافی عبور داده شدند. در نهایت غلظت سدیم و پتاسیم با استفاده از فلیم فتومتر، غلظت فسفر به روش مولیبدات– وانادات با استفاده از اسپکتروفتومتر و غلظت کلر با روش تیتراسیون با نیترات نقره تعیین شدند (Chapman and Pratt, 1961). تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

جدول ۱- ویژگی‌های خاک قبل از کاشت پاجوش زرشک

Table 1- Soil properties before cultivation of *Berberis vulgaris* suckers

بافت خاک Texture	Ca	Mg	Na	K	P	مواد آلی OM	رطوبت اشباع SP	EC	pH
	(mg.kg^{-1})					%		(dS.m^{-1})	
لومی شنی Sandy Loam	13.5	4.30	132	120	5.81	0.32	28	2.05	8.04

نتایج

وزن خشک برگ

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر وزن خشک پاجوش‌ها معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). نتایج نشان داد که شوری موجب کاهش وزن خشک برگ پاجوش‌های زرشک شد. با اعمال سطوح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر وزن خشک برگ به‌ترتیب ۲۱ و ۳۳ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. از طرفی تلقیح با باکتری‌ها وزن خشک برگ را در تمام سطوح شوری افزایش داد. کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه P_1 و P_2 در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر وزن خشک برگ را به‌ترتیب ۱۳ و ۲۱ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. بیشترین وزن خشک برگ از کاربرد همزمان باکتری در شرایط بدون تنش (۰/۷۰ گرم) و کمترین وزن خشک برگ از تیمار شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۳۹ گرم) بدست آمد (جدول ۳).

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر برخی ویژگی‌های رویشی و فیزیولوژیکی پاجوش‌های زرشک در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 2- ANOVA (mean squares) for the effect of PGPR on the growth and physiological traits of *Berberis vulgaris* irrigated by different levels of water salinity

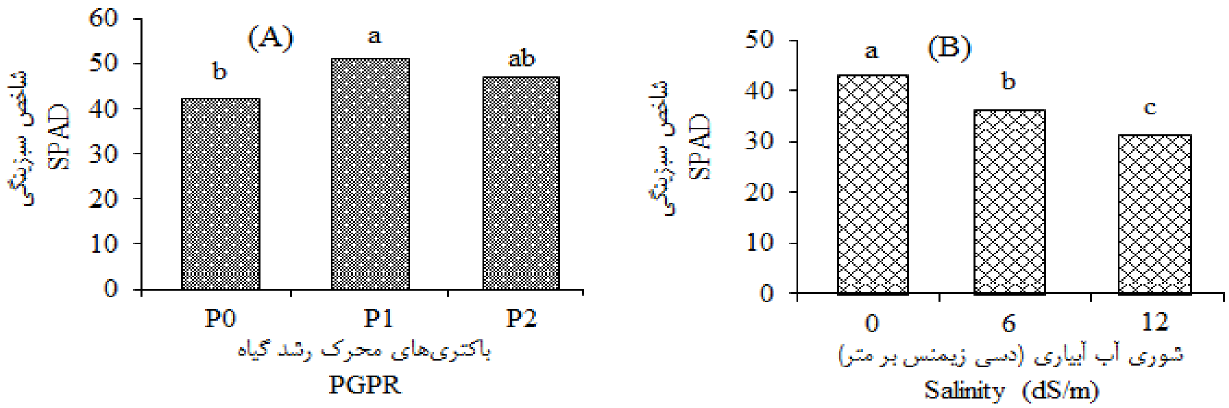
منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	وزن خشک برگ Leaf dry weight	شاخص سبزینگی SPAD	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کاروتنوئید Carotenoids	مقدار نسبی آب برگ RWC
بلوک Block	2	0.001*	21.7 ns	0.0006 ns	0.0001 ns	0.007 ns	0.003 ns	4.11 ns
شوری Salinity (S)	2	0.106**	126**	0.030*	0.014*	0.083**	0.124**	147*
باکتری Bacteria (B)	2	0.020**	97.6*	0.026*	0.011*	0.047*	0.026*	194**
شوری× باکتری Salinity×Bacteria (S×B)	4	0.002*	29.3ns	0.0008 ns	0.009*	0.036*	0.013*	6.02ns
خطا Error	18	0.0005	10.3	0.005	0.002	0.009	0.004	21.3
ضریب تغییرات C.V (%)		4.51	8.21	11.9	13.1	8.58	12.5	7.59
منابع تغییر S.O.V	**درجه آزادی df**	**پرولین Proline**	**قند کل Total Sugars**	**غلظت فسفر P Concentration**	**غلظت پتاسیم K Concentration**	**غلظت سدیم Na Concentration**	**غلظت کلر Cl Concentration**	**نسبت پتاسیم به سدیم K/Na**
بلوک Block	2	0.002 ns	0.003 ns	0.0001 ns	0.005*	0.15*	1.18*	0.0001 ns
شوری Salinity (S)	2	0.155**	0.027**	0.012**	0.008**	3.27**	22.6**	0.166**
باکتری Bacteria (B)	2	0.112*	0.004 ns	0.013**	0.004 ns	0.22**	20.1**	0.004*
شوری× باکتری Salinity×Bacteria (S×B)	4	0.003 ns	0.026**	0.011**	0.008**	0.17*	2.46*	0.007**
خطا Error	18	0.006	0.003	0.001	0.002	0.018	0.82	0.009
ضریب تغییرات C.V (%)		15.2	19.1	7.13	9.91	8.09	13.6	10.6

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.

شاخص سبزینگی

براساس نتایج تجزیه واریانس، فقط اثرات اصلی باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر شاخص سبزینگی برگ پاجوش‌های زرشک معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). با توجه به نتایج بدست آمده، تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه مقدار شاخص سبزینگی را افزایش داد. در بین باکتری‌ها فقط سویه P_1 تأثیر معنی‌داری بر مقدار این شاخص داشت، بطوری‌که تلقیح با این باکتری شاخص سبزینگی را ۲۱ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد (شکل A۱-). همچنین با افزایش شوری آب آبیاری به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، شاخص سبزینگی به‌ترتیب ۱۶ و ۲۸ درصد نسبت به شاهد بدون شوری بطور معنی‌داری کاهش یافت (شکل B۱-).

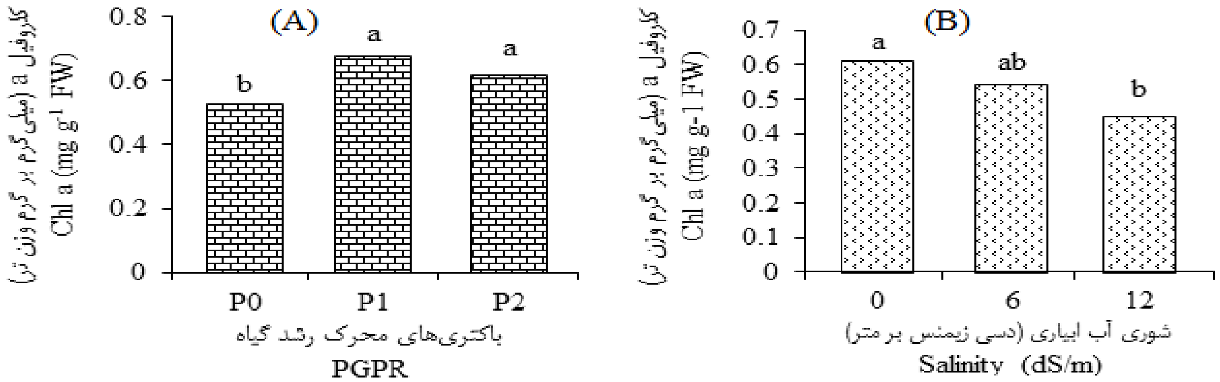


شکل ۱- اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه (A) و شوری آب آبیاری (B) بر شاخص سبزینگی برگ پاجوش‌های زرشک

Figure 1- the effect of PGPR (A) and salinity of irrigation water (B) on the leaf SPAD index of *Berberis vulgaris* suckers (LSD, $p\leq0.05$).

غلظت کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فقط اثرات اصلی باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر مقدار کلروفیل a برگ پاجوش‌های زرشک معنی‌دار ($p<0.05$) شد. از طرفی اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر مقدار کلروفیل b، کل و کاروتنوئید برگ معنی‌دار ($p<0.05$) گردید (جدول ۲). براساس نتایج تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه مقدار کلروفیل a برگ را بطور معنی‌داری افزایش داد. تلقیح با باکتری‌های P_1 و P_2 مقدار کلروفیل a برگ را به‌ترتیب ۲۸ و ۱۷ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد (شکل A۲-). از طرفی اگرچه سطح شوری آب ۶ دسی زیمنس بر متر اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل a نداشت اما، شوری آب ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مقدار کلروفیل a برگ را ۲۶ درصد نسبت به شاهد بدون شوری کاهش داد (شکل ۲-B). نتایج نشان داد که سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر تأثیر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل b برگ نداشت، اما شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مقدار کلروفیل b را ۲۴ درصد نسبت به شاهد بدون تنش کاهش داد. از طرفی تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه (بویژه سویه P_2) گیاه موجب افزایش مقدار کلروفیل b برگ شد. براساس نتایج اثر متقابل شوری و باکتری، تلقیح با باکتری P_2 در سطوح شوری آب آبیاری صفر، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مقدار کلروفیل b را به‌ترتیب ۲۱، ۲۴ و ۳۱ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. غلظت کلروفیل b در برگ زرشک‌های تلقیح شده با هر دو سویه باکتری در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) با سطح شاهد عدم تلقیح و بدون شوری نداشت (جدول ۳). براساس نتایج هر دو سطح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش معنی‌دار غلظت کلروفیل کل برگ شد. بطوری‌که کمترین مقدار این پارامتر از سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر برابر با ۰/۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر حاصل شد. از طرفی تیمار با باکتری‌های محرک رشد گیاه مقدار کلروفیل کل را در تمام سطوح شوری آب آبیاری به شکل معنی‌داری ($p<0.05$) در مقایسه با شاهد در همان سطح شوری افزایش داد. بیشترین غلظت کلروفیل کل از کاربرد باکتری P_2 در شرایط بدون تنش شوری (۰/۹۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بدست آمد (جدول ۳). همچنین براساس نتایج بدست آمده، فقط سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر آب آبیاری تأثیر معنی‌داری بر مقدار کاروتنوئید برگ داشت و مقدار آن را ۱۹ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. از طرفی تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه بویژه در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر موجب افزایش معنی‌دار کاروتنوئید برگ شد. تیمار با باکتری‌های P_1 و P_2 مقدار این پارامتر را در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به‌ترتیب ۱۷ و ۹ درصد نسبت به همان سطح شوری بدون تلقیح افزایش داد (جدول ۳).

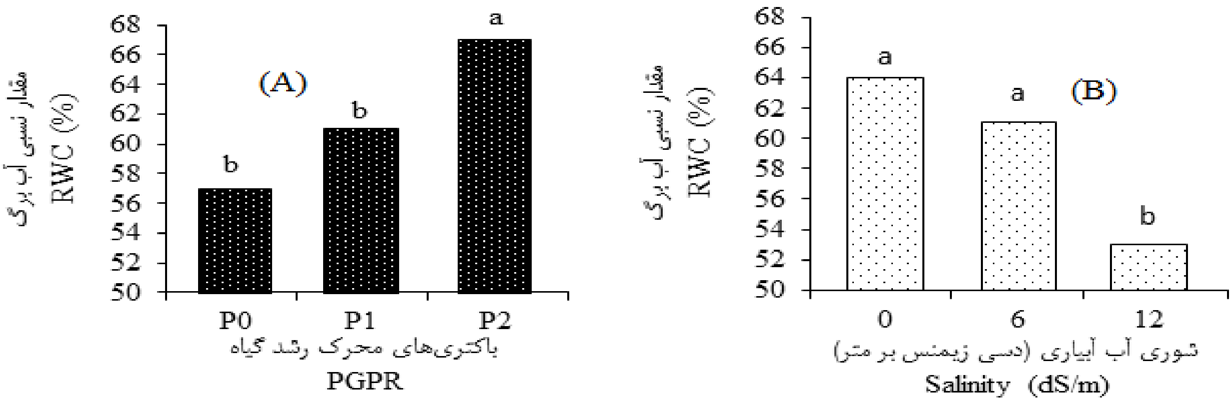


شکل ۲- اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه (A) و شوری آب آبیاری (B) بر مقدار کلروفیل a برگ پاجوش‌های زرشک

Figure 2- The effect of PGPR (A) and salinity of irrigation water (B) on the leaf chlorophyll a content of *Berberis vulgaris* suckers (LSD, $p≤0.05$)

مقدار نسبی آب برگ (RWC)

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، فقط اثرات اصلی باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر مقدار نسبی آب برگ پاجوش‌های زرشک معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). نتایج نشان داد که اگرچه باکتری P_1 تأثیر معنی‌داری بر RWC برگ نداشت اما تلقیح با باکتری P_2 مقدار آن را ۱۸ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد (شکل ۳A-). از طرفی در بین سطوح مختلف شوری نیز فقط سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر آب آبیاری موجب کاهش معنی‌دار این شاخص (۱۷ درصد) نسبت به شرایط بدون تنش گردید (شکل ۳-B).



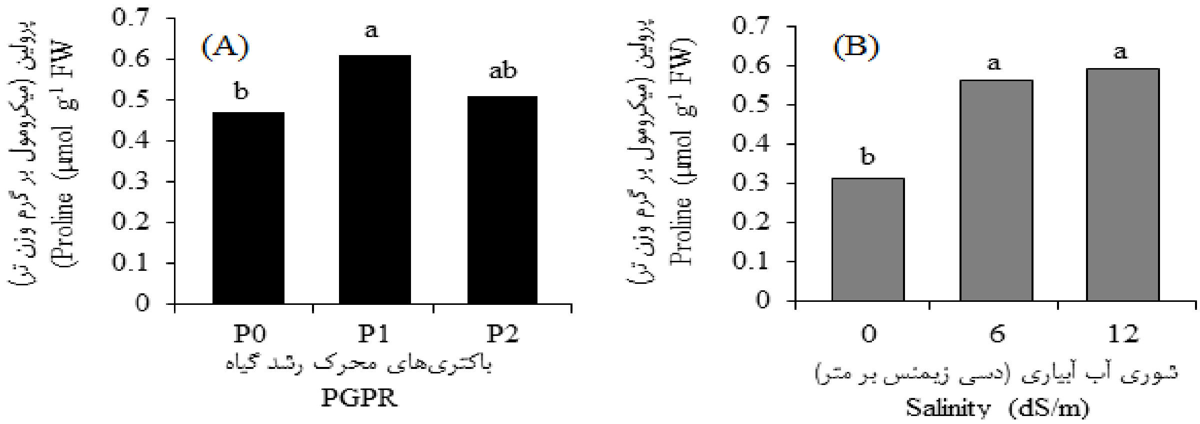
شکل ۳- اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه (A) و شوری آب آبیاری (B) بر مقدار آب نسبی برگ پاجوش‌های زرشک

Figure 3- The effect of PGPR (A) and salinity of irrigation water (B) on the leaf RWC of *Berberis vulgaris* suckers (LSD, $p≤0.05$)

پرولین و قند کل برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فقط اثرات اصلی باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر مقدار پرولین برگ معنی‌دار ($p<0.05$) شد. از طرفی اثر اصلی شوری و اثرات متقابل باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر مقدار قند کل برگ پاجوش‌های زرشک معنی‌دار ($p<0.05$) گردید (جدول ۲). براساس نتایج فقط باکتری P_1 تأثیر معنی‌داری بر مقدار پرولین برگ داشت. بطوری‌که تلقیح با این باکتری مقدار این پارامتر را ۳۰ درصد نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۴-A). از طرفی سطوح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر آب آبیاری مقدار پرولین برگ را به‌ترتیب ۷۹ و ۹۰ درصد نسبت به شاهد بدون تنش افزایش داد. بین دو سطح شوری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴B-). همچنین با توجه به نتایج، سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر آب آبیاری مقدار قند کل برگ را افزایش داد، هرچند سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر

متر تأثیر معنی‌داری بر مقدار این پارامتر نداشت. از طرفی تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه مقدار قند برگ را نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. با توجه به نتایج اثر متقابل شوری و باکتری، تلقیح با سویه P_1 موجب کاهش معنی‌دار ($p<0.05$) غلظت قند در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به همان سطح شوری بدون تلقیح شد. هرچند هیچکدام از باکتری‌ها اثر معنی‌داری بر غلظت قند برگ در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به همان سطح شوری بدون تلقیح نشان نداد. بیشترین مقدار قند کل از کاربرد باکتری P_2 در شرایط بدون تنش (۴۳/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) بدست آمد که با تیمار شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۴).



شکل ۴- اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه (A) و شوری آب آبیاری (B) بر مقدار پرولین برگ پاجوش‌های زرشک

Figure 4- The effect of PGPR (A) and salinity of irrigation water (B) on the leaf proline content of *Berberis vulgaris* suckers (LSD, $p\leq0.05$).

جدول ۳- تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر وزن خشک و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برگ پاجوش‌های زرشک تحت در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 3- The effect of PGPR on the leaf dry weight and chlorophyll and carotenoid content of *Berberis vulgaris* suckers irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)			شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)		
	0	6	12	0	6	12
		وزن خشک برگ Leaf dry weight (g)			کاروتنوئید Carotenoids ($mg.g^{-1}$ FW)	
P0	0.58 b	0.46 d	0.39 e	0.42 c	0.40 cd	0.34 f
P1	0.70 a	0.51 c	0.44 d	0.51 a	0.45 bc	0.40 cd
P2	0.66 a	0.56 b	0.47 cd	0.44 bc	0.43 c	0.37 e
		کلروفیل b Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$ FW)			کلروفیل کل Total Chlorophyll ($mg.g^{-1}$ FW)	
P0	0.38 bc	0.34 cd	0.29 e	0.83 bc	0.75 e	0.72 f
P1	0.41 b	0.39 bc	0.33 cd	0.85 b	0.76 d	0.77 cd
P2	0.46 a	0.42 b	0.38 bc	0.92 a	0.79 c	0.78 c

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters were significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

غلظت عناصر فسفر، پتاسیم، سدیم، کلر و نسبت پتاسیم به سدیم در برگ

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی و متقابل باکتری‌های محرک رشد گیاه و شوری آب آبیاری بر غلظت عناصر فسفر، پتاسیم، سدیم، کلر و نسبت پتاسیم به سدیم برگ زرشک معنی‌دار ($p<0.05$) شد (جدول ۲). نتایج نشان داد که شوری باعث

افزایش غلظت فسفر در برگ‌های زرشک شد. از طرفی تلقیح با باکتری P_1 در شرایط بدون تنش موجب افزایش ۲۷ درصدی غلظت فسفر در مقایسه با شاهد بدون تلقیح گردید. همچنین کاربرد باکتری‌ها بویژه در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر موجب کاهش معنی‌دار فسفر نسبت به همان سطح شوری گردید. بر اساس نتایج بدست آمده، تفاوت معنی‌داری ($p<0.05$) در غلظت فسفر برگ زرشک‌های تلقیح شده با باکتری‌ها در شرایط شور و غیر شور مشاهده نشد. بیشترین غلظت فسفر برگ از سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۰/۵۸ درصد) و کمترین آن از تیمار شاهد (۰/۳۷ درصد) بدست آمد (جدول ۴). همچنین با توجه به نتایج بدست آمده، شوری آب آبیاری تأثیر معنی‌داری بر غلظت پتاسیم برگ نشان نداد. اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه نیز بر غلظت پتاسیم در سطوح شوری مختلف، متفاوت بود. تیمار با باکتری P_1 در شرایط بدون تنش شوری غلظت پتاسیم را ۱۹ درصد نسبت به شاهد بدون تلقیح افزایش داد. از طرفی تلقیح با باکتری P_2 موجب کاهش ۲۱ درصدی پتاسیم برگ نسبت به شاهد در همان سطح شوری شد (جدول ۴). براساس نتایج بدست آمده، با سطوح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر غلظت سدیم برگ به‌ترتیب ۱/۷۱ و ۲/۷۴ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت.
تیمار با باکتری‌های محرک رشد گیاه نیز اگرچه در شرایط بدون تنش شوری اثر معنی‌داری بر غلظت سدیم نداشت، اما در شرایط شور موجب کاهش غلظت این عنصر نسبت به سطح شوری بدون تلقیح گردید. به‌عنوان مثال تلقیح با باکتری P_2 در سطوح شوری ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، سدیم برگ را به‌ترتیب ۲۸ و ۲۵ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری کاهش داد (جدول ۴). با توجه به نتایج، با افزایش شوری آب آبیاری نسبت پتاسیم به سدیم برگ کاهش یافت. تلقیح با باکتری‌ها نیز اگرچه در شرایط شور بر این نسبت تأثیر معنی‌داری نداشت اما در شرایط غیرشور موجب افزایش آن شد. بیشترین نسبت پتاسیم به سدیم از کاربرد باکتری P_2 در شرایط بدون تنش شوری (۰/۴۹) بدست آمد که با تیمار باکتری P_1 اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۴). نتایج نشان داد که با افزایش شوری آب آبیاری به ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، غلظت کلر برگ به‌ترتیب ۳۸ و ۸۱ درصد افزایش یافت. از طرف دیگر تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه به‌ویژه در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر موجب کاهش غلظت این عنصر در برگ شد. کاربرد باکتری‌های P_1 و P_2 در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، غلظت کلر را به‌ترتیب ۱۸ و ۴۲ درصد نسبت به شاهد در همان سطح شوری کاهش داد (جدول ۴).

جدول ۴- تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر مقدار قند کل و غلظت برخی عناصر در برگ پاجوش‌های زرشک در سطوح مختلف شوری آب آبیاری

Table 4- The effect of PGPR on the total sugars content and concentration of some elements in the leaf of *Berberis vulgaris* suckers irrigated by different levels of water salinity

باکتری Bacteria	شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)			شوری Salinity ($dS.m^{-1}$)		
	0	6	12	0	6	12
	قند کل Total sugars ($mg.g^{-1}$ DW)			غلظت فسفر برگ Leaf P concentration (%)		
P0	20.5 c	43.1 a	27.6 bc	0.37 d	0.51 b	0.58 a
P1	32.5 b	29.5 bc	27.7 bc	0.47 bc	0.47 bc	0.50 b
P2	43.7 a	37.1 ab	21.5 c	0.43 cd	0.41 d	0.42 cd
	غلظت پتاسیم برگ Leaf K concentration (%)			غلظت سدیم برگ Leaf Na concentration (%)		
P0	0.40 bcd	0.44 abc	0.47 ab	1.31 g	2.28 d	3.59 a
P1	0.48 a	0.33 d	0.43 abc	1.27 gh	1.92 e	3.07 b
P2	0.44 abc	0.37 cd	0.37 cd	1.23 gh	1.64 f	2.71 c
	غلظت کلر برگ Leaf Cl concentration (%)			نسبت پتاسیم به سدیم برگ K/Na		
P0	5.76 def	8.03 bc	10.4 a	0.35 b	0.22 c	0.19 c
P1	5.01 ef	6.71 cd	8.51 b	0.47 a	0.19 c	0.20 c
P2	4.76 ef	4.44 f	6.05 de	0.49 a	0.22 c	0.18 c

برای هر صفت میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD اختلاف معنی‌داری ندارند.

Values followed by different letters had significant difference according to LSD test at $p<0.05$.

بحث

اگر چه درختچه‌های زرشک تحمل نسبتاً زیادی به تنش شوری دارند اما سطوح شوری زیاد می‌تواند رشد آنها بویژه پاجوش‌های تازه کشت شده را کاهش دهد. با توجه به نتایج این پژوهش، شوری آب آبیاری موجب کاهش رشد و وزن خشک برگ پاجوش‌های زرشک شد. کاهش رشد گیاهان تحت تنش شوری می‌تواند به دلیل کاهش ذخایر انرژی گیاه باشد. به دلیل اثرات منفی پتانسیل اسمزی پایین محلول خاک و جذب کم آب و عناصر غذایی و تأثیر سوء شوری بر فتوسنتز و فرآیندهای جانبی آن، انرژی لازم برای رشد مناسب ریشه و اندام هوایی در اختیار آن ها قرار نمی‌گیرد (Munns, 2005). افزایش تولید ماده خشک تابع وجود آب قابل وصول در محیط ریشه و در نتیجه انتقال غذای لازم از ریشه به برگ‌ها و در نهایت انجام فتوسنتز در شرایط بهینه است (Sabet *et al.*, 2010). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه موجب افزایش وزن خشک برگ پاجوش‌های زرشک شد. باکتری‌های ریزوسفری از طریق تولید هورمون‌های رشد، افزایش حلالیت ترکیبات نامحلول فسفر و پتاسیم از طریق تولید اسیدهای آلی و معدنی، تولید سیدروفور و افزایش حلالیت آهن و روی و تولید آنزیم ACC–دآمیناز مؤثر در کاهش اثرات سوء اتیلن تنشی، به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند (Jimenez-Mejia *et al.*, 2022Glick, 2004 ;). باکتری‌های مورد استفاده در این پژوهش توانایی تولید ایندول استیک اسید، سیدروفور، آنزیم ACC–دآمیناز و انحلال فسفات نامحلول (تری کلسیم فسفات) را در شرایط آزمایشگاهی داشتند (Azarmi *et al.*, 2015). دلیل افزایش وزن گیاهان تحت تیمار باکتری محرک رشد، می‌تواند به افزایش رشد ریشه و در نتیجه افزایش جذب آب و عناصر غذایی و انتقال آن‌ها به اندام هوایی گیاه مربوط باشد (Zabihi *et al.*, 2009; Azarmi-Atajan and Sayyari-Zohan, 2022). زینلی بافقی و همکاران (Zeinali bafghi *et al.*, 2020) بیان کردند استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش شاخص‌های رشد گیاه، شامل وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه، سطح برگ و تعداد برگ گیاه پسته در خاک شور شد. براساس نتایج این پژوهش شاخص سبزینگی، محتوای کلروفیل کل، a و b و همچنین کاروتنوئید برگ با افزایش شوری کاهش یافت. هرچند تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه بویژه در شرایط تنش شوری موجب افزایش این شاخص‌ها گردید. کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی تحت تأثیر شوری ممکن است ناشی از کاهش سنتز کمپلکس اصلی رنگدانه کلروفیل، تخریب نوری کمپلکس پروتئینی رنگدانه‌های a و b که محافظت کننده دستگاه فتوسنتزی هستند، آسیب اکسیداتیو لیپیدهای کلروپلاست، رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها یا افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد (Egert and Tevini, 2002). کاروتنوئیدها نیز که از کاروتن‌ها و زانتوفیل‌ها تشکیل شده‌اند، نقش مهمی در دریافت انرژی نورانی برای فتوسنتز دارند. این رنگدانه‌ها علاوه بر دخالت مستقیم در فرآیند فتوسنتز، در افزایش مقاومت سیستم‌های دفاعی گیاهان برابر تنش‌های اکسیداتیو نیز نقش دارند (Zaker *et al.*, 2016). با حضور باکتری‌های محرک رشد گیاه، افزایش رشد گیاه با ترشح هورمون‌های رشد و به دنبال آن افزایش تقسیم سلولی و توسعه ریشه، افزایش کلروفیل و به دنبال آن افزایش فتوسنتز در گیاه می‌تواند اتفاق بیفتد (Aseri *et al.*, 2008). همچنین باکتری‌ها با توسعه ریشه و افزایش دسترسی به آب و عناصر غذایی، کارایی مصرف آب در محیط شور را افزایش داده و در نتیجه تأثیر شوری بر فتوسنتز را کاهش می‌دهند. نتایج مشابهی در رابطه با تأثیر باکتری‌های محرک رشد گیاه بر افزایش محتوای کلروفیل در نهال‌های پسته در شرایط تنش شوری گزارش شده است (Azarmi *et al.*, 2016). نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار نسبی آب برگ بویژه در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کاهش یافت. از طرفی اگرچه اثر متقابل شوری و باکتری بر مقدار نسبی آب برگ معنی‌دار نشد اما نتایج اثرات اصلی نشان داد که کاربرد باکتری‌ها موجب افزایش محتوای آب برگ شد. حفظ آماس سلولی از شاخص‌های مهم تحمل به شوری است که از این طریق گیاه با کاهش رشد در اثر تنش شوری مقابله می‌کند (Shabala *et al.*, 2000). تجمع نمک در منطقه ریشه از طریق کاهش پتانسیل اسمزی، از جذب آب توسط ریشه جلوگیری کرده و در نتیجه مقدار آب اندام‌های گیاه از جمله برگ را کاهش می‌دهد (Warrence *et al.*, 2002). در پژوهش حاضر اثرات تجمع سدیم در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر بصورت سوختگی حاشیه برگها و ضعیف شدن پاجوش‌ها مشاهده گردید. این امر در احداث باغات زرشک در خاکهای شور می‌بایست مورد توجه قرار گیرد. به نظر می‌رسد باکتری‌های محرک رشد گیاه باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش شوری از طریق هدایت هیدرولیکی، تنظیم اسمزی، از بین بردن تأثیر سمی یون سدیم، حفظ هدایت اسمزی بالاتر و فتوسنتز بیشتر می‌شوند (Zeinali bafghi *et al.*, 2020). همچنین با افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی و آب و تولید هورمون‌های گیاهی و آنزیم ACC–دآمیناز موجب بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه شده و در نتیجه با کاهش غلظت گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزاد، استحکام غشای سلولی را افزایش می‌دهند (Ansari Azarmi *et al.*, 2016 ; *et al.*, 2019). مایک و همکاران (Mayak *et al.*, 2004) نشان دادند که تلقیح گوجه‌فرنگی و فلفل با باکتری مقدار RWC را در این گیاهان افزایش داده است. کارلیداگ و همکاران (Karlidag *et al.*, 2013) نیز گزارش کردند که تلقیح توت‌فرنگی با باکتری سبب افزایش RWC تحت تنش شوری شد. پرولین از جمله موادی است که غلظت آن در سلول در پاسخ به تنش‌های خشکی و شوری

افزایش می‌یابد و باعث حرکت آب سلول‌های برگ و افزایش فشار تورژسانس می‌شود (Mahajan and Tuteja, 2005). تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی و شوری به علت فعال‌سازی آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین، کاهش اکسیداسیون و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین‌ها می‌باشد (Maggio *et al.*, 2002). در مطالعات مختلف تأثیر تنش شوری بر مقدار قند گیاه متفاوت گزارش شده است. این موضوع نشان می‌دهد که تأثیر شوری در تغییر کربوهیدرات‌ها به گونه گیاهی و غلظت نمک بستگی دارد. کاهش مقدار قند می‌تواند به‌دلیل کاهش فتوسنتز باشد، زیرا کاهش آب موجب کاهش آماس شده و از دست دادن فشار آماس به بسته شدن روزنه‌ها در نتیجه کاهش فتوسنتز منجر می‌شود (Parihar *et al.*, 2015). در این پژوهش نیز هر دو سطح شوری آب آبیاری (۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) موجب افزایش تجمع پرولین در برگ شد. همچنین تلقیح با باکتری P_1 نیز موجب افزایش غلظت پرولین برگ شد. تلقیح با باکتری‌ها در شرایط شور موجب کاهش و در شرایط بدون شوری موجب افزایش قند برگ شد. به نظر می‌رسد این باکتری‌ها با تولید متابولیت‌های مختلف و افزایش جذب آب و عناصر غذایی نقش بارزی در تنظیم اسمولیت‌های سلولی از جمله پرولین و قندهای محلول ایفا می‌کنند. باکتری‌های محرک رشد گیاه مانند باسیلوس و آرتروباکتر می‌توانند با تجمع پرولین و قندهای محلول در گیاه موجب حفظ آب سلول و در نتیجه افزایش مقاومت در برابر تنش شوری شوند (Sziderics *et al.*, 2007). با افزایش شوری آب آبیاری غلظت فسفر افزایش ولی تلقیح با باکتری‌های محرک رشد گیاه در شرایط شور موجب کاهش و در شرایط غیر شور موجب افزایش مقدار آن شد. افزایش غلظت فسفر با افزایش تنش شوری را می‌توان به کاهش تقسیم سلولی، عدم توسعه و رشد برگ و در نتیجه افزایش غلظت نسبت داد. باکتری‌های محرک رشد گیاه با سازوکارهای مختلفی مانند تولید اکسین، اسیدهای آلی و معدنی، ترشح آنزیم فسفاتاز و پروتون موجب افزایش فراهمی فسفر برای گیاه، رشد ریشه و جذب آب و عناصر غذایی می‌گردند. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، در سطح شوری ۶ دسی زیمنس بر متر باکتری P_1 و در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر هر دو باکتری موجب کاهش معنی‌دار غلظت فسفر برگ نسبت به شاهد بدون تلقیح در همان سطح شوری شدند. دلیل این امر می‌تواند به بهبود شرایط رشدی پاجوش‌های زرشک مانند افزایش جذب آب و عناصر غذایی از جمله فسفر که منجر به افزایش رشد برگ و توسعه آنها (همانطور که در نتایج مربوط به وزن خشک برگ‌ها مشاهده شد) شده است، مربوط باشد. به طورکلی برهمکنش بین فسفر و شوری پیچیده و به گونه و سن گیاه، ترکیب و سطوح شوری و غلظت فسفر در محیط بستگی دارد (Grattan and Grieve, 1999). پتاسیم از عناصر معدنی ضروری در شیره سلولی است و نقش بسیار زیادی در کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه دارد. استفاده از کودهای بیولوژیک علاوه بر افزایش جمعیت و فعالیت ریزجانداران مفید خاک، در جهت افزایش فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز مانند پتاسیم عمل نموده و سبب بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شود (Salehi *et al.*, 2003). با توجه به افزایش وزن خشک برگ با کاربرد باکتریها، کاهش غلظت پتاسیم در برگ زرشک‌های تلقیح شده با باکتری‌ها می‌تواند به افزیش رشد برگ و اثر رقت مربوط باشد. براساس نتایج این پژوهش، شوری آب آبیاری موجب تجمع سدیم و کلر در برگ زرشک در شرایط بدون کاربرد باکتری شد. هر چند کاربرد باکتری محرک رشد گیاه موجب کاهش غلظت این عناصر در شرایط شور شد. سدیم سبب برهم خوردن تعادل اسمزی، تخریب غشاهای سلولی، کاهش رشد، جلوگیری از تقسیم و بزرگ شدن سلول‌ها می‌شود (Munns and Tester, 2008). افزایش جذب سدیم و کلر موجب کاهش جذب عناصر ضروری و القای سم به گیاه می‌گردد (Tester and Davenport, 2003). گزارش شده است که غلظت بالای کلر می‌تواند به ایجاد سمیّت آن در بافت‌های گیاه منجر شود (Xu *et al.*, 2000). در این پژوهش اثرات تجمع کلر بصورت زرد شدن حاشیه برگها در سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر مشاهده گردید. نسبت پتاسیم به سدیم به‌عنوان شاخص جهت تحمل شوری استفاده می‌شود و بالابودن نسبت پتاسیم به سدیم در بافت‌های گیاهی که تحت تنش شوری قرار گرفته‌اند، به‌عنوان یکی از سازوکارهای فیزیولوژیکی مهم در ایجاد تحمل به شوری در بعضی از گونه‌های گیاهی بوده است (Azadi *et al.*, 2017). آنزیم‌هایی که به پتاسیم به‌منزله‌ی کوفاکتور نیاز دارند به غلظت‌های زیاد سدیم یا نسبت‌های بالای سدیم به پتاسیم حساس‌اند (Chaves *et al.*, 2009). ریزوباکتری‌های محرک رشد می‌توانند با افزایش جذب پتاسیم، نیتروژن و فسفات و در نتیجه کاهش نسبت سدیم به پتاسیم اثرات منفی شرایط شور را کاهش دهند (Nadeem *et al.*, 2009). غلظت بالای سدیم محتوای کلسیم، منیزیم و فسفر ریشه گیاه را کاهش داده و منجر به القای عدم تعادل یونی در ریزوسفر گیاه می‌شود (Zhang *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که شوری آب آبیاری موجب کاهش وزن خشک برگ، غلظت کلروفیل و کاروتنوئید، مقدار نسبی آب برگ و نسبت پتاسیم به سدیم برگ پاجوش‌های زرشک شد. در مقابل با افزایش شوری، مقدار پرولین و قند کل و غلظت عناصر فسفر، سدیم و کلر برگ افزایش یافت. با توجه به نتایج بدست آمده، سطح شوری آب آبیاری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، تأثیر منفی بر استقرار و رشد پاجوشهای زرشک نشان داد که این امر می‌تواند در احداث باغات زرشک مهم باشد. همچنین تلقیح با باکتری‌ها وزن خشک برگ،

کلروفیل، کاروتنوئید، غلظت فسفر و پتاسیم، و نسبت پتاسیم به سدیم را بویژه در شرایط شور افـزایش داد. همچنـین کـاربرد بـاکتری‌هـا در شرایط شور منجر به کاهش مقدار فسفر و قند کـل و در شـرایط غیـر شور موجب افزایش مقدار این شاخص‌ها شد. با توجه به نتایج بدسـت آمده باکتری‌های محرک رشد گیـاه بـا افـزایش جـذب آب و عناصـر غذایی مانند فسفر و پتاسیم موجب تنظیم و تعـدیل اسـمزی در گیـاه شده و بدین‌ترتیب تحمل پاجوش‌های زرشک را به تـنش شـوری آب آبیاری افزایش دادند. توانایی این باکتری‌ها برای بهبود رشـد گیـاه در شرایط شور می‌تواند به دلیل تولید اکسین، سـیدروفور، انحـلال تـری کلسیم فسفات و بویژه تولید آنـزیم ACC–دآمینـاز (همـانطور کـه در شرایط آزمایشگاهی مشاهده شد) مربوط باشد. بنابراین می‌توان از این باکتری‌ها (بویژه باکتری P_2 به دلیل کاهش بیشتر تجمع سدیم و کلـر در برگ در شرایط شور) برای بهبـود تغذیـه و رشـد و کـاهش اثـرات منفی تنش شوری بر استقرار پاجوشهای زرشک استفاده کرد.

منابع

1. Ansari F.A., Ahmad I., and Pichtel J. 2019. Growth stimulation and alleviation of salinity stress to wheat by the biofilm forming *Bacillus pumilus* strain FAB10. Applied Soil Ecology 143: 45-54. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.05.023.
2. Arnon A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.
3. Aseri G.K., Jain N., Panwar J., Rao A.V., and Meghwal P.R. 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, and metabolism and rhizosphere enzyme activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. Scientia Horticulturae 117: 130-135. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.03.014.
4. Azadi A., Mardi M., Majidi Harvan E., Mohammadi S.A., and Moradi F. 2017. QTL Analysis for sodium and potassium concentration and potassium to sodium ratio in wheat under salt-stress condition. Crop Biotechnology 6(16): 61-73. (In Persian with English abstract)
5. Azarmi F., Mozafari V., Abbaszadeh-Dahaji P., and Hamidpour M. 2016. Biochemical, physiological and antioxidant enzymatic activity responses of pistachio seedlings treated with plant growth promoting rhizobacteria and Zn to salinity stress. Acta Physiologiae Plantarum 38: 21. https://doi.org/10.1007/s11738-015-2032-3.
6. Azarmi F., Mozafari V., Abbaszadeh-Dahaji P., and Hamidpour M. 2015. Isolation and evaluation of plant growth promoting indices of *Pseudomonas fluorescens* isolated from pistachio rhizosphere. Journal of Soil Biology 2(2): 173-186. https://doi.org/10.22092/sbj.2015.100867.
7. Azarmi-Atajan F., and Sayyari-Zohan M.H. 2022. Effect of phosphate solubilizing bacteria and triple superphosphate on the growth, physiological parameters and phosphorus uptake of pistachio seedlings. Journal of Horticulture and Postharvest Research 5(1): 69-71. https://doi.org/10.22077/JHPR.2022.4917.1260.
8. Bates L.S., Walderen R.P., and Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207. http://dx.doi.org/10.1007/BF00018060.
9. Chapman H.D., and Pratt P.F. 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters, The University of California’s Division of Agriculture Sciences, Davis, Calif, USA.
10. Chaves M.M., Flexas J., and Pinheiro C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany 103(4): 551-560. https://doi.org/10.1093/aob/mcn125.
11. Egamberdieva D., and Kucharova Z. 2009. Selection for root colonizing bacteria stimulating wheat growth in saline soils. Biology and Fertility of Soil 45: 563-571. https://doi.org/10.1007/s00374-009-0366-y.
12. Egert M., and Tevini M. 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). Environmental and Experimental Botany 48: 43-49. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00008-4.
13. Feng G., Zhang F.S., Xl L., Tian C.Y., Tang C., and Rengel Z. 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. Mycorrhiza 12: 185-190. https://doi.org/10.1007/s00572-002-0170-0.
14. Glick B.R. 2004. Bacterial ACC deaminase and the alleviation of plant stress. Advances in Applied Microbiology 56: 291-312. https://doi.org/10.1016/S0065-2164(04)56009-4.
15. Grattan S.R., and Grieve C.M. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. Scientia Horticulture 78: 127-157. https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00192-7.
16. Iqbal M., and Ashraf M. 2013. Alleviation of salinity-induced perturbations in ionic and hormonal concentrations in spring wheat through seed preconditioning in synthetic auxins. Acta Physiologiae Plantarum 35: 1093-1112. https://doi.org/10.1007/s11738-012-1147-z.
17. Jimenez-Mejia R., Medina-Estrada R.I., Carballar-Hernández S., del Carmen Orozco-Mosqueda M., Santoyo G., and Loeza-Lara P.D. 2022. Teamwork to survive in hostile soils: use of plant growth-promoting bacteria to ameliorate soil salinity stress in crops. Microorganisms 10: 150. https://doi.org/10.3390/microorganisms10010150.
18. Kafi M., and Balandari A. 2004. Berberis (Production and Processing). Ferdowsi University Press, Mashhad, Iran, p. 210

19. Karlidag H., Yildirim E., Turan M., Pehluvan M., and Donmez F. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria× ananassa*). HortScience 48(5): 563-567. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.5.563.
20. Kong W., Wei J., Abidi P., Lin M., Inaba S., Li C., and Pan H. 2004. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. Nature Medicine 10(12): 1344-1351. https://doi.org/10.1038/nm1135.
21. Maggio A., Miyazaki S., Veronese P., Fujita T., Ibeas J.I., Damsz B., Narasimhan M.L., Hasegawa P.M., Joly R.J., and Bressan R.A. 2002. Does proline accumulation play an active role in stress-induced growth reduction. Plant Journal 31: 699-712. https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2002.01389.x.
22. Mahajan S., and Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics 444(2): 139-158. https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018.
23. Mayak S., Tirosh T., and Glick B.R. 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. Plant physiology and Biochemistry 42(6): 565-572. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.05.009.
24. Mc Cready R., Guggolz J., Silviera V., and Owens H. 1950. Determination of starch and amylose in vegetables, application to peas. Analytical Chemistry 22: 1156-1158. https://doi.org/10.1021/ac60045a016.
25. Mishra P., Mishra J., and Arora N.K. 2021. Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants - Recent developments and prospects: A review. Microbiological Resarrch 252: 126861. https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126861.
26. Moradinezhad F., Hassanpour S., and Sayyari MH. 2018. Influence of preharvest spray of calcium chlorideand salicylic acid on physicochemical and quality properties of fresh seedless barberry fruit. Journal of Horticultural Science 32(1): 61-74. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JHORTS4.V32I1.60331.
27. Munns R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytologist 167: 645-663. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01487.x.
28. Munns R., and Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911.
29. Nadeem S.M., Zahir Z.A., Naveed M., and Arshad M. 2009. Rhizobacteria containing ACC-deaminase confers salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. Canadian Journal of Microbiology 55(11): 1302-1309. https://doi.org/10.1139/w09-092.
30. Parihar P., Singh S., Singh R., Singh V.P., and Prasad S.M. 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. Environmental Science and Pollution Research 22(6): 4056-4075. https://doi.org/10.1007/s11356-014-3739-1.
31. Paul D., and Nair S. 2008. Stress adaptations in a plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. Journal of Basic Microbiology 48:1-7. https://doi.org/10.1002/jobm.200700365.
32. Sabet Teimouri M., Kafi M., Avarseji Z., and Orooji K. 2010. Effect of drought stress, corm size and corm tunic on morphoecophysiological characteristics of saffron (*Crocus sativus* L.) in greenhouse conditions. Journal of Agroecology 2(2): 323-334. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jag.v2i2.7639.
33. Salehi M., Kochaki A.R. and Nasiri Mahallati M. 2003. Nitrogen and chlorophyll content as an indicator of drought stress of wheat. Iranian Field Crop Research 1(2): 199-204. https://doi.org/20.1001.1.20081472.1382.1.2.7.5.
34. Shabala S., Bamurina O., and Newman L. 2000. Ion-specific mechanisms of osmoregulation in been mesophyll cells. Journal of Biology Sciences 331: 215-225. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.348.1243.
35. Sziderics A.H., Rasche F., Trognitz F., Wilhelm E., and Sessitsch A. 2007. Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaptation in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Canadian Journal of Microbiology 53: 1195-1202. https://doi.org/10.1139/W07-082.
36. Tester M., and Davenport R. 2003. Na tolerance and Na transport in higher plants. Annals of Botany 91(5): 503-527. https://doi.org/10.1093/aob/mcg058.
37. Vives-Peris V., Gomez-Cadenas A., and Perez-Clemente R.M. 2018. Salt stress alleviation in citrus plants by plant growth-promoting rhizobacteria *Pseudomonas putida* and *Novosphingobium* sp. Plant Cell Reports 37: 1557-1569. https://doi.org/10.1007/s00299-018-2328-z.
38. Warrence N., Pearson K.E., and Bavder J.W. 2002. The basic of salinity and sodicity effect on soil physical properties. Journal of Plant Physiology 25: 64-70.
39. Xu G., Magen H., Tarchitzky J., and Kafkaki U. 2000. Advances in chloride nutrition. Advances in Agronomy 68: 96-150. https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60844-5.
40. Zabihi H.R., Savagebi G.R., Khavazi K., and Ganjali A. 2009. Effect of application of Pseudomonas fluorescents on yield and yield components of wheat under different soil salinity levels. Journal of Water and Soil 23(1): 199-208. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/JSW.V0I0.1551.
41. Zakar T., Laczko-Dobos H., Toth T.N., and Gombos Z. 2016. Carotenoids assist in cyanobacterial photosystem II assembly and function. Frontiers in Plant Science 7: 295. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00295.

42. Zeinali bafghi M., Gholamnezhad J., Esmailzadeh-Hosseini S.A., Shirmardi M., and Jafari A. 2020. Influence of growth promoting bacteria on growth and physiological traits of pistachio in saline soils. Horticultural Plants Nutrition 2(2): 107-129. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22070/HPN.2020.4548.1030.
43. Zhang M., Fang Y., Ji Y., Jiang Z., and Wang L. 2013. Effects of salt stress on ion content, antioxidant enzymes and protein profile in different tissues of *Broussonetia papyrifera*. South African Journal of Botany 85: 1-9. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.11.005.